

Foto: Francine P. Scolfaro



Uso da Luz Branca Intensa Modulada para Controle de Doenças em Frutos Pós-colheita

Francine Ponzo Scolfaro¹
Eliane Aparecida Benato²
Washington Luiz de Barros Melo³
José Maria Monteiro Sigrist⁴
Alfredo Almeida Vitali⁵
Patricia Cia⁶
Maria Fernanda Penteado M Castro⁷
Gabriel Costa Bueno⁸

O Brasil é o maior produtor de citros, maior consumidor e exportador de suco de laranja. Cerca de 80% da produção é destinada à industrialização, sendo o suco produzido exportado para vários países, incluindo-se principalmente Bélgica, Países Baixos, Estados Unidos e Japão.

A safra 2005/2006 de laranja, segundo a Associação Brasileira dos Exportadores de Cítricos (Abecitrus), encerrou com a colheita de 360 milhões de caixas. Dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), referentes a 2006, apontam para uma produção de 18,054 milhões de toneladas da fruta. Em relação às exportações, as frutas frescas foram o destaque em 2006, segundo o Instituto Brasileiro de Frutas (IBRAF), sendo que o valor negociado atingiu US\$16,469 milhões no período com incremento de 84% sobre o período anterior, para um volume de 50 mil toneladas.

Não obstante a importância econômica e social que representa a citricultura para o país, este setor enfrenta vários problemas de natureza fitossanitária, onde se inserem a mancha preta dos frutos cítricos (*Guinardia citricarpa*) e os bolores verdes (*Penicillium digitatum*) e azul (*Penicillium italicum*), comprometendo, principalmente, a exportação de frutas frescas.

Nota-se uma busca crescente dos consumidores por frutos livres de resíduos químicos. Conseqüentemente, há um considerável interesse em estratégias alternativas de controle de doenças pós-colheita, como o uso de tecnologia "limpa", entre as quais os tratamentos físicos (termoterapia, radiação ultravioleta, luz pulsante), que possam complementar ou substituir o uso de fungicidas, prolongar o período de armazenamento dos frutos, sem causar impacto ao meio ambiente. A tecnologia de aplicação da luz pulsante está em uso a partir da década de 80 e testada para inativação de microrganismos em superfícies de ambiente de manipulação de alimentos, em alimentos processados e *in natura*. (BARBOSA-CANOVAS et al., 1997; GÓMEZ-LÓPEZ et al., 2005a; MARQUENIE et al., 2003a).

A maioria das pesquisas em fungos e bactérias com luz pulsante é centrada no efeito causado pela radiação ultravioleta sob pulsos muito curtos desta energia para aumentar a potência incidente, mas o efeito das outras regiões espectrais é pouco considerado (TURTOI e NICOLAU, 2007; (ROWAN et al., 1999). Essas regiões têm sua contribuição no efeito fototérmico para descontaminação pelo aquecimento superficial do fruto, esterilização de fungos e bactérias nas superfícies de alimentos e embalagens, que pode ser controlado através

¹Eng. Agrônoma, MSc., GEPC ITAL, Av. Brasil, 2880 - Campinas/SP - CEP:13070-178, fran_cca@yahoo.com.br

²Eng. Agrônoma, Dra., GEPC ITAL, Av. Brasil, 2880 - Campinas/SP - CEP:13070-178, benato@ital.sp.gov.br

³Físico, Dr., Embrapa Instrumentação, C.P. 741, São Carlos - SP, CEP 13560-970, wlbmelo@cnpdia.embrapa.br;

⁴Eng. Agrônomo, Dr., GEPC ITAL, Av. Brasil, 2880 - Campinas/SP - CEP:13070-178, jmms@ital.sp.gov.br

⁵Eng. de Alimentos, Dr., GEPC ITAL, Av. Brasil, 2880 - Campinas/SP - CEP:13070-178, avitali@ital.sp.gov.br

⁶Eng. Agrônoma, Dra., Centro de Engenharia e Automação, IAC, Rod. Gabriel Paulino Bueno Couto, km 65, C.P. 26, Jundiá/SP, 13201-970, pcia@iac.sp.gov.br

⁷Eng. Agrônoma, Dra., GEPC ITAL, Av. Brasil, 2880 - Campinas/SP - CEP:13070-178, fernanda@ital.sp.gov.br

⁸Biomédico, MSc., GEPC ITAL, Av. Brasil, 2880 - Campinas/SP - CEP:13070-178, gcbiomed@gmail.com

da variação da distância entre lâmpada e fruto e pelo tempo de pulso (GÓMEZ-LÓPEZ et al., 2005b; OZER e DEMIRCI, 2006; DUNN et al, 1989, 1991). As patentes são invenções relacionadas a métodos e aparelhos para a prevenção de microorganismos em alimentos e embalagens através de luz intensa pulsante (DUNN et al, 1989, 1991).

A energia luminosa pode-se apresentar nas formas de emissões: contínua, pulsada e modulada. Quando contínua, sua intensidade teoricamente não varia no tempo; pulsada e modulada há variações das amplitudes no tempo através da interrupção do fornecimento de corrente elétrica à lâmpada ou por interrupção do feixe de luz através de um sistema mecânico de abrir e fechar.

Os fenômenos físicos nos dois casos, luz pulsante e luz modulada, são ligeiramente diferentes. No primeiro, luz pulsante, a potência luminosa transmitida ao fruto é a grandeza mais significativa, enquanto no segundo, a energia e a frequência de modulação são as grandezas importantes. A energia absorvida pelos cromóforos na superfície do fruto causa a fotoinativação e a frequência de modulação influi na profundidade da camada aquecida no fruto, quanto mais alta a frequência mais superficial é o aquecimento.

O efeito fototérmico com luz pulsante é muito superficial, por exemplo, para a frequência de 33kHz, o calor gerado na superfície do fruto está distribuído numa camada de alguns micrometros de espessura, já para a luz modulada em 15Hz, esse efeito térmico ocorre em uma camada de algumas dezenas de micrometros (MELO, 1992; MELO et al., 1993; MELO e FARIA, 1995; DE PAULA et al., 2007; DE ALBUQUERQUE et al., 2007). No primeiro caso, este efeito é até desprezado por alguns autores; no segundo, o efeito térmico não pode ser desconsiderado.

Os conceitos de luz pulsante e modulada são mostrados na Figura 1.

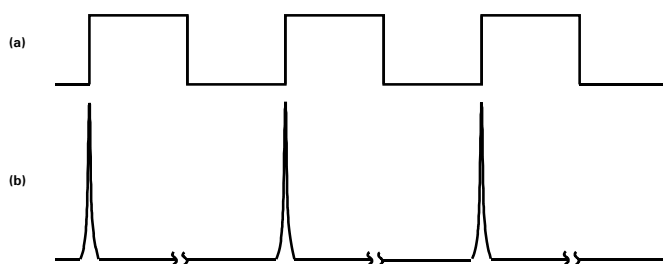


Fig.1 - Esboço da luz modulada (a) no formato de onda quadrada; luz pulsante (b) no formato de picos agudos e estreitos.

Toda luz modulada é pulsante, mas nem toda luz pulsante é modulada. Na luz modulada, o tempo de duração de cada pulso é cerca da metade do período, enquanto na luz pulsante, o tempo de duração de um pulso é muito menor do que o tempo transcorrido entre pulsos consecutivos, como mostra a Figura 1. Por exemplo, nos estudos de luz pulsante, como indicado acima, tem-se usado pulsos desde 0,1 a 0,001 segundo, outros autores usam pulsos com 30s de duração em uma frequência de 15Hz, como o período desta é cerca de 66ms. Assim, o tempo do pulso é aproximadamente 2000 vezes menor do que o período. No caso da luz modulada em 15Hz, a duração do pulso é cerca de 33ms, que corresponde a metade do período, os tempos com e sem

luz são similares. A quantidade de fótons emitidos é mais uniforme e a energia é mais homogênea, já que a lâmpada funciona em regime, enquanto em luz pulsante a lâmpada opera no transiente. Portanto, por todo este trabalho preferimos usar o termo luz modulada ao invés de luz pulsante. Apropriadamente denominaremos Luz Branca Intensa e Modulada (LBIM).

Objetivo

Avaliar o efeito da luz modulada (LBIM) no controle de *Guinardia citricarpa* e *Penicillium digitatum in vitro* e em laranjas pós-colheita.

Material e Métodos

Para a avaliação de pulsos de luz 'in vivo', um lote de laranjas 'Pêra' foi selecionado ainda no pomar comercial, coletando-se frutos com sintomas de mancha preta (*G. citricarpa*). No laboratório, após a etapa de lavagem com detergente neutro, seguido de enxágüe e secagem natural, as lesões de mancha preta presentes nos frutos foram identificadas e marcadas com caneta de retroprojeto. Os frutos foram armazenados em caixas de papelão e fechadas com sacos plásticos ligeiramente umedecidos para transporte de Campinas (ITAL) a São Carlos (EMBRAPA/CNPDIA), onde foram expostos à LBIM nos tempos: 0, 30 s, 1, 3, 5 e 10 min. Em seguida, os frutos foram embalados novamente para transporte a Campinas. Os frutos foram armazenados, sem embalagem flexível, em câmara a $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}/75\text{-}85\% \text{ UR}$ por até 10 dias. Durante o armazenamento, realizou-se avaliação dos frutos quantificando-se a incidência de novas manchas pretas nos frutos.

Outro lote de laranjas 'Pêra' foi selecionado no campo para teste com *P. digitatum* e, após lavagem e secagem natural, foi dividido em 6 tratamentos. Os frutos foram inoculados através de injeção subcuticular (2 mm de profundidade), em um ponto da região equatorial, com 10 L da suspensão de conídios ($5 \times 10^5 \text{ ufc.mL}^{-1}$) de *P. digitatum*, com auxílio de uma seringa de cromatografia. Para melhor dispersão dos conídios foi adicionada uma gota de Tween 20 na suspensão. E após 2 horas de incubação, os frutos foram expostos à luz modulada nos seguintes tempos: 0 (testemunha); 30s; 1; 3; 5 e 10 min. No final de cada tratamento, os frutos foram acondicionados em caixas de papelão e fechados com sacos plásticos ligeiramente umedecidos para transporte e, no ITAL, foram armazenados em câmara a $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}/75\text{-}85\% \text{ UR}$, com remoção do filme, por até 7 dias e avaliados quanto incidência e severidade da doença. O delineamento experimental empregado foi inteiramente casualizado, com 5 repetições por tratamento, constituídas de 1 fruto como unidade experimental, repetindo-se duas vezes ambos os experimentos.

Para realizar a irradiação dos frutos, montou-se um aparato experimental composto por uma fonte de luz branca halogênica de 250W, modulada em torno de 15Hz por um *chopper* ORIEL, lente para colimação, espelho, obturador, suporte para o fruto e esfera integradora, como mostrado na Figura 2. O obturador e a esfera integradora têm funções específicas. O primeiro serve para interromper a passagem de luz quando não há fruto para irradiar, enquanto a esfera reflete a luz para o seu centro. Assim, a luz, que não incidiu diretamente sobre o

fruto, retorna para este devido à reflexão da superfície da esfera. O controle deste aparato é feito por um computador e um programa que faz a abertura do obturador e controla o tempo de exposição conforme a escolha do usuário. Esta montagem foi realizada no laboratório de Fototérmica da Embrapa Instrumentação Agropecuária sobre a mesa óptica do espectrômetro fototérmico.

O esboço mostrado na Figura 2 dá uma idéia da simplicidade do sistema de irradiação. A luz é colimada e incide sobre o *chopper* ou também chamado de modulador mecânico, que é formado por um motor DC e disco metálico com setores abertos e fechados. Ao girar o disco, os setores fechados impedem a passagem enquanto os abertos deixam passar a luz, então, o resultado é um feixe de luz modulado conforme a frequência determinada. A luz modulada é novamente colimada e desviada para entrar na esfera integradora. Esta esfera foi construída a partir de um globo de vidro, usado em iluminação de jardim, com cerca de 35cm de diâmetro, revestido de papel alumínio na face interna para causar a reflexão. Nesses experimentos, optou-se pelo papel alumínio por ser mais prático e de baixo custo, embora se poderia revestir com tinta branca ou metalizada para formar uma superfície espelhada.

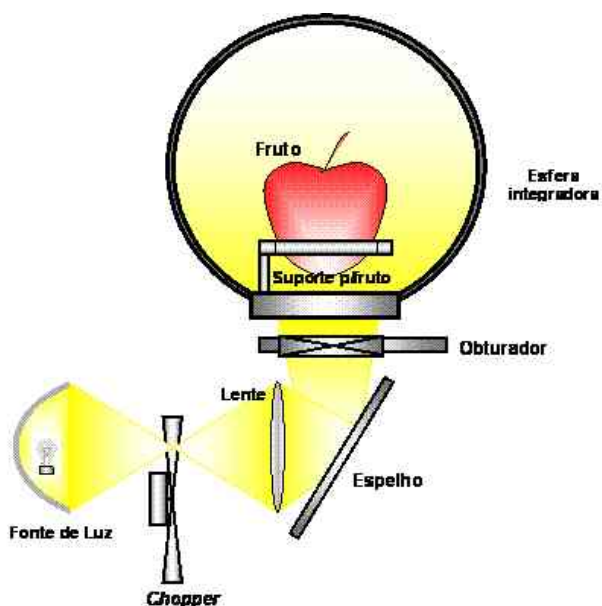


Fig. 2 - Esboço do aparato montado para a realização do experimento de luz modulada.

Para realizar uma exposição, inicialmente, forneceu-se ao computador as informações necessárias de controle de tempo, em seguida, colocou-se o fruto no suporte com a região inoculada voltada para a entrada de luz, colocou-se a esfera integradora que compõe a câmara de irradiação. Feito isto, acionou-se o computador para abrir o obturador e iniciar a contagem de tempo. Após o tempo programado, o computador fecha o obturador e o usuário pode retirar a esfera e em seguida o fruto. Esta operação foi realizada diversas vezes nos tempos de exposição de 1/2, 1, 3, 5, 10 e minutos, sendo que para cada tempo houve repetições com cinco frutos. Verificou-se, após os tempos de irradiação com 15Hz de modulação, que a área iluminada da laranja estava aquecida. Estimou-se que a temperatura era em torno de 40°C.

As Figuras 3 e 4 mostram o aparato de irradiação com vistas do suporte para fruto e a esfera integradora em operação. Também se pode ter uma visão parcial do espectrômetro fototérmico. Na Figura 5, vê-se o interior da câmara de irradiação tendo uma laranja sob incidência de luz. Nota-se que a região inoculada recebe luz diretamente, enquanto que a área superior recebe a luz refletida pela esfera.

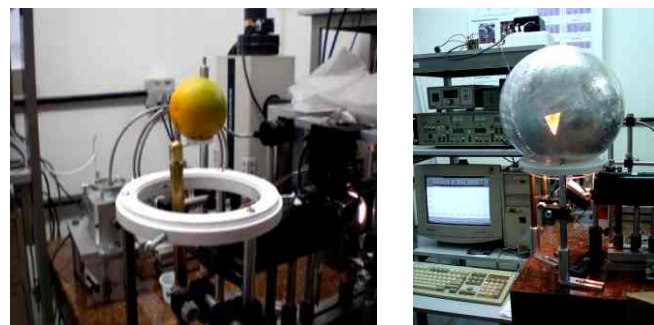


Fig. 3 e 4 - Vistas da Montagem para irradiação de frutos por LBIM.



Fig. 5 - Vista do interior da câmara de irradiação

Resultados e discussões

Para frutos infectados com *G. Citricarpa*, tanto no 1º como no 2º experimento, tratados com LBIM não diferiram estatisticamente entre os tratamentos. Mas em ambos, frutos com 30 s de exposição à luz resultaram em uma menor incidência de manchas pretas.

Marquenie et al. (2003b), relatam que morangos tratados com diferentes tempos de luz pulsante não inibiu a incidência de podridões, causado por *B. cinerea*. Apenas o tratamento a 40°C e 120s de exposição à luz pulsante, resultou em uma redução no desenvolvimento do fungo comparado com o controle. A maior dose de UV-C (1.0 kJ.m⁻²) e de pulsos de luz (120s) resultou em 1 dia 'extra' sem a observação de micélio do fungo em morangos. O que sugere que a luz pulsante pode ser uma alternativa interessante quando aplicada em combinação com outros métodos.

No 1º experimento, laranjas 'Pêra' inoculadas com *P. digitatum* e tratadas com diferentes tempos de exposição à luz modulada, resultaram em um menor crescimento de lesão, significativamente diferente, com 30 segundos, 1 minuto e 5 minutos de exposição até os 3 primeiros dias de avaliação. Posteriormente, todos os frutos tratados com LBIM apresentaram lesões menores do que a testemunha.

No 2º experimento, laranjas 'Pêra' avaliadas até 6 dias de armazenamento, resultaram em um menor crescimento da lesão de *Penicillium* com 1 min de exposição se comparado a testemunha e aos outros tratamentos. Analisando-se os tratamentos aplicados, constata-se que pode ocorrer variação da eficiência do tratamento com LBIM de um lote para outro de laranjas.

As Figuras 6 a 8 mostram a evolução do fungo ao longo dos 5 dias de armazenamento sobre as laranjas não irradiadas, amostras testemunhas ou de controles. As Figuras 9 e 10 mostram um conjunto de laranjas submetido a LBIM durante 5 minutos. Na Fig. 9, após dois dias, percebe-se pequena formação da colônia apenas em uma das laranjas. Após 5 dias, nota-se uma evolução, mas numa intensidade muito menor do que vista nas amostras de controle. (1º experimento)

Outro ponto a se discutir é a variação de resultados nos diferentes experimentos de aplicação de LBIM no controle dos patógenos nas laranjas. Isso pode ser função do estágio de maturação dos frutos na colheita, bem como, do nível de infecção quiescente no caso da *Guinardia citricarpa*. Além disso, observou-se maior sensibilidade do *P. digitatum* aos tratamentos com luz modulada *in vivo* e *in vitro*, quando comparado a *G. citricarpa*.

Também, a ação da LBIM sobre *Guinardia citricarpa* não foi tão efetiva, necessitando de maior compreensão quando ao efeito da luz modulada sobre este patógeno. O conhecimento da dose e do tempo de aplicação é de fundamental importância para a eficiência da técnica. Estes serão os itens futuros de pesquisa e aperfeiçoamento.

Conclusão

A LBIM, nas condições deste experimento, mostrou efeito de controle no crescimento micelial *in vitro* de

Penicillium digitatum, bem como, sobre o desenvolvimento do patógeno em laranja 'Pêra'. Não se observou efeito de controle da luz modulada sobre *Guinardia citricarpa*. Talvez o procedimento experimental não esteja adequado para este patógeno, necessitando, portanto, encontrar parâmetros instrumentais, como frequência de modulação, intensidade e faixa espectral da luz, mais apropriados.

Conclui-se com o presente trabalho, que pesquisas com o uso de LBIM como uma alternativa de controle de doenças em frutos pós-colheita é importante, pois alcançamos resultados promissores e mais estudos serão desenvolvidos. Pelo menos dois efeitos podem ser considerados quando se usa a luz branca, por abranger desde o infravermelho ao ultravioleta. A região do ultravioleta é muito usada para esterilização atuando na quebra de moléculas e desnaturando compostos. A região do visível e do infravermelho são absorvidas por cromóforos específicos gerando e absorvendo calor. No processo de pulso de luz, o tempo e a energia fazem papéis muito importantes. Nos experimentos realizados nesse trabalho ocorreram, pelo menos, duas ações: a influência do ultravioleta e o forte efeito fototérmico.

Um outro aspecto é a potência incidente e a frequência de modulação usada nesses experimentos. A energia fornecida pela lâmpada não foi monitorada, por não ter no laboratório um radiômetro adequado, também a frequência foi fixada em torno de 15Hz, como é indicada na literatura, mas os tempos de pulsos são muito menores do que os usados neste trabalho. Então, o efeito fototérmico devido a esses pulsos estreitos é muito superficial, enquanto que nos experimentos aqui demonstrados, este tempo é suficiente para a luz causar aquecimento tanto superficial quanto mais internamente. Dependendo do tipo do fruto esta frequência deve ser de valor bem maior para frutos de cascas muito finas. Determinação das melhores frequências de modulação para cada tipo de fruto é um trabalho futuro.

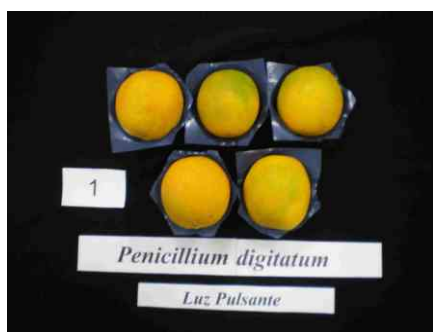


Fig. 6 - Testemunhas sem irradiar



Fig. 7 - Após 2 dias

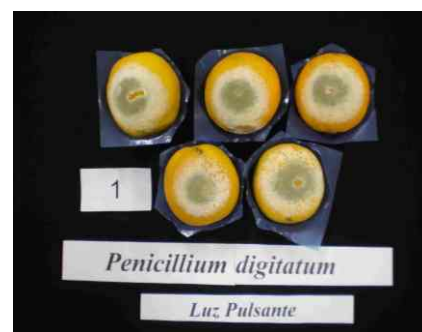


Fig. 8 - Após 5 dias

Amostras irradiadas durante 5 minutos em 15 Hz.



Fig. 9



Fig. 10

Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPESP pelo apoio financeiro através do projeto 01/10993-0, e à Embrapa.

Referências

- BARBOSA-CANOVAS, G.; POTHAKAMURY, U. R.; PALOU, E.; SWANSON, B. G. (Ed.). **Nonthermal Preservation of Foods**. New York: Marcel Dekker, 1997. p. 276. ISBN 082479979-8.
- De ALBUQUERQUE, J. E.; MELO, W. L. B.; FARIA, R. M. Study of optical absorption differences of doped polyaniline films by photothermal spectroscopies. **Appl. Phys. A -Materials Science & Processing**, [S. l.], v. 89, n. 1, p. 165-172, 2007.
- De PAULA, M. H.; MELO FILHO, S. F.; LEMOS, G. M.; LOPES JUNIOR, C. A. T.; MAEOCA, G. S.; CORTEZ, M. A. A.; CARVALHO, A. A.; KITANO, C.; SILVA, J. G. da.; MELO, W. L. B. The open-ende photothermal cell with LiTaO₃ and its use in determining the photochemical loss. **Sensors and Actuators B Chemical**, Lausanne, v. 125, p. 274-277, 2007.
- DUNN, J.; CLARK, R. W.; ASMUS, J. F.; PEARLMAN, J. S.; BOYER, K.; PAINCHAUD, F. HOFMANN, G. A. **Method and appts. for food preservation** - uses short pulses of intense light in the range 170 to 2600 nanometres. 1989. Patente US 4871559.
- DUNN, J.; CLARK, R. W.; ASMUS, J. F.; PEARLMAN, J. S.; BOYER, K.; PAINCHAUD, F. HOFMANN, G. A. **Method and appts. for food preservation** - uses short pulses of intense light in the range 170 to 2600 nanometres. 1991. Patente US 5034235.
- GÓMEZ-LÓPEZ, V. M.; DEVLIEGHERE, F.; BONDUELLE, V.; DEBEVERE, J. Factors affecting the inactivation of micro-organisms by intense light pulses. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 99, p. 460-470, 2005a.
- GÓMEZ-LÓPEZ, V. M.; DEVLIEGHERE, F.; BONDUELLE, V.; DEBEVERE, J. Intese light pulses decontamination of minimally processed vegetables and their shelf-life. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 103, p. 79-89, 2005b.

MARQUENIE, D.; GEERAERD, A. H.; LAMMERTYN, J.; SOONTJENS, C.; VAN IMPE, J. F.; MICHIELS, C. W.; NICOLAI, B. N. Combinations of pulsed white light and UV-C or mild heat treatment to inactivate conidia of *Botrytis cinerea* and *Monilia fructigena*. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 85, p.185-196, 2003a.

MARQUENIE, D.; MICHIELS, C. W.; VAN IMPE, J. F.; SCHREVEENS, E.; NICOLAI, B. N. Pulsed white light in combination with UV-C and heat to reduce storage rot of strawberry. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 28, p. 455-461, 2003b.

MELO, W. L. B. **Contribuições às técnicas de espectroscopias fototérmicas e aplicações a materiais poliméricos**. 1992. 110 f. Tese (Doutorado) Instituto de Física e Química de São Carlos, Universidade de São Carlos, São Carlos, SP.

MELO, W. L. B.; FARIA, R. M. Photoacoustic procedure for measuring thermal parameters of transparent solids, **Appl. Phys. Lett.**, [S. l.], v. 67, n. 26, p. 3893-3894, 1995.

MELO, W. L. B.; PAWLICKA, A.; SANCHES, R.; MASCARENHAS, S.; FARIA, R. M. Determination of thermal parameters and the optical GAP of poly(3-butylthiophene) films by photopyroelectric spectroscopy. **J. Appl. Phys.**, [S. l.], v. 74, n. 1, p. 1-4, 1993.

OZER, N. P.; DEMIRCI, A. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on raw salmon fillets by pulsed UV-light treatments. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 41, p. 354-360, 2006.

ROWAN, N. J.; MacGREGOR, S. J.; ANDERSON, J. G.; FOURACRE, R. A.; McILVANEY, L.; FARISH, O. Pulsed-Light inactivation of food-related microorganisms. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, p.1312-1315, mar.1999.

TURTOI, M.; Nicolau, A. **Intense light pulse treatment as alternative method for mould spores destruction on paper-polyethylene packaging material**. Disponível em: <www.aseanfood.info/scripts/count_article.asp?Article_c ode=11019785>. Acesso em: 2007.

Comunicado Técnico, 87

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Instrumentação Agropecuária
Rua XV de Novembro, 1542 - Caixa Postal 741
CEP 13560-970 - São Carlos-SP
Fone: 16 3374 2477
Fax: 16 3372 5958
E-mail: sac@cnpdia.embrapa.br
www.cnpdia.embrapa.br

1a. edição
1a. impressão 2007: tiragem 300

Comitê de Publicações

Presidente: Dr. Carlos Manoel Pedro Vaz
Membros: Dra. Débora Marcondes B. P. Milori,
Dr. João de Mendonça Naime,
Dr. Washington Luiz de Barros Melo
Valéria de Fátima Cardoso

Membro Suplente: Dr. Paulo S. P. Herrmann Junior

Expediente

Rervisor editorial: Dr. Victor Bertucci Neto
Normalização bibliográfica: Valéria de Fátima Cardoso
Tratamento das ilustrações: Valentim Monzane
Editoração eletrônica: Valentim Monzane